

**Die Bestimmung
des Plasminogen-Aktivators in den
Leukocyten bei normalem und
leukämiekrankem Blut**

Walter Schütz

=

1964

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt am Main

(Direktor : Prof. Dr. J. Frey)

DIE BESTIMMUNG DES PLASMINOGEN-AKTIVATORS IN DEN
LEUKOCYTEN BEI NORMALEM UND LEUKÄMIEKRANKEM BLUT

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Zahnmedizin

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johann Wolfgang Goethe-Universität

Frankfurt am Main

vorgelegt von

Walter Schütz

Zahnarzt aus Frankfurt am Main

1964

Dekan : Prof. Dr. J. Frey

Referent : Prof. Dr. J. Jürgens

Korreferent : Prof. Dr. W. Rotter

Mündliche Prüfung : 16. September 1964



IN DANKBARKEIT
MEINEN ELTERN GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546413_0023

Das Thema dieser Arbeit verdanke ich

Herrn Prof. Dr. J. J ü r g e n s

Sowohl für das Thema als auch für die mir jederzeit
freundlichst gewährte Unterstützung möchte ich
Herrn Prof. Dr. Jürgens an dieser Stelle recht herzlich
danken.

Herrn Prof. Dr. F r e y danke ich dafür, daß ich
diese Arbeit in seiner Klinik ausführen durfte.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung und Problemstellung	7
A. Theoretischer Teil	13
I. Zur Geschichte der Fibrinolyse	13
II. Zur Aktivierung des fibrinolytischen Systems	17
III. Fibrinolyse und Leukämie	23
B. Experimenteller Teil	28
I. Allgemeine Arbeitsweise	28
II. Die Herstellung der Leukocyten suspensionen	29
III. Die Bestimmung der Aktivität des in den Leukocyten vorkommenden Aktivators. - Beschreibung der Methode -	33
IV. Untersuchungsergebnisse	39
V. Beurteilung der Untersuchungsergebnisse	51
VI. Diskussion	53
Zusammenfassung	55
Literaturverzeichnis	56

E i n l e i t u n g u n d P r o b l e m s t e l l u n g

Die Leukämien gehören zu den Krankheiten, die auch für den Zahnarzt von Interesse sind. Ist er es doch nicht selten, der die ersten Symptome im Zahn-, Mund- und Kieferbereich entdeckt. K r a n z (27) weist in seiner "Klinischen Zahnheilkunde" ausdrücklich auf die Bedeutung der Veränderungen in der Mundhöhle hin: "Anfangen von der einfachen papillären Schwellung der Gingiva bis zu den schwersten ulcerösen Prozessen entwickelt sich das Krankheitsbild in der Mundhöhle. Die Papillen der Gingiva und die Mundschleimhaut sind hyperämisch und bluten bei leisester Berührung."

C o o p e r b e r g u n d N e i m a n (15) beschreiben solch einen Fall. Ein 49jähriger Patient leidet an schwerem Zahnfleischbluten, verbunden mit Petechien am Gaumen und der Wangenschleimhaut. Er konsultiert zuerst seinen Zahnarzt. Nach der Überweisung in die Klinik stirbt der Patient innerhalb weniger Tage an einer akuten Leukämie.

Hin und wieder kommt es auch vor, daß eine schwere Blutung nach einer Zahnextraktion einsetzt, die der Zahnarzt mit seinen ihm zur Verfügung stehenden Mitteln nicht mehr stillen kann. Es liegt dann immer der Verdacht auf eine Hämophilie oder eine andere Gerinnungsstörung vor. Bei der anschließenden Blutuntersuchung stellt sich dann u. U. heraus, daß nicht eine Gerinnungsstörung, sondern eine leukämische Er-

krankung die Blutungsursache darstellt.

Nicht nur bei operativen Eingriffen, sondern immer ist die hämorrhagische Diathese eine der gefürchtetsten Komplikationen bei der Leukämie. Die Patienten bluten aus Mund und Nase, sie bluten im Bereich des Magen-Darmkanals und der äußeren Haut. Häufig setzt eine Hirnblutung dem Leben des Patienten ein Ende.

Was ist die Ursache dieser Blutungen?

Bis heute ist man im wesentlichen der Auffassung, daß die Blutung von der mit der Leukämie einhergehenden Thrombocytopenie verschuldet wird (46).

Zu etwas anderen Ergebnissen ist G r o s s (21) gekommen. Er hat 51 Fälle von chronischen Myelosen untersucht. Ein Teil dieser Fälle ist thrombocytopenisch. Bei diesen Patienten besteht Blutungsneigung. Ein noch größerer Teil geht aber mit einer Thrombocytose einher. Einige dieser Kranken bluten, scheinbar paradoxerweise trotz der Thrombocytose. G r o s s schließt daraus, daß eine Funktionsstörung der Thrombocyten vorliegen muß.

C o o p e r b e r g und Mitarbeiter (15) und auch J. J ü r g e n s (24) weisen ebenfalls darauf hin, daß nicht alle Fälle von leukämischen Blutungen mit entsprechender Schwere der Thrombocytopenie einhergehen. So hatte der Patient, dessen Schicksal C o o p e r b e r g beschreibt, 120.000 Thrombo-

cyten und starb trotzdem an einer intracraniellen Blutung. Man kann also durchaus zustimmen, wenn die Thrombocytopenie als alleinige Ursache für die leukämischen Blutungen abgelehnt wird.

In den letzten zwanzig Jahren hat nun das Forschungsgebiet der Fibrinolyse dank der Arbeiten von T i l l e t und G a r n e r , von M i l s t o n e , C h r i s t e n s e n , M ü l l e r t z , A s t r u p u. a. große Fortschritte gemacht. Es ist mittlerweile bei einer Reihe von Krankheiten eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems beobachtet worden. Oft geht dabei eine hämorrhagische Diathese mit der Aktivierung einher. Besonders als Komplikation in der Geburtshilfe sind Fibrinogenopenien mit mehr oder weniger starker Aktivierung des fibrinolytischen Systems beobachtet worden (22, 36, 39). Die Fibrinogenopenie soll durch eine intravasale Gerinnung und Fibrinabscheidung verursacht werden, die durch die Einschwemmung thrombokinaseaktiver Stoffe aus der Placenta und dem Uterus entstehen. In der zweiten Phase wird dann, als Abwehrvorgang gedeutet, die Fibrinolyse aktiviert (22).

Es gibt aber auch Theorien, die eine direkte Aktivierung des fibrinolytischen Systems annehmen, zumal sich ein Plasminogenaktivator im Uterusgewebe befindet.

Interessant für die vorliegende Arbeit ist es zu wissen, daß bereits 1935 R i s a k (35) bei drei Fällen von myeloischer Leukämie, die das klinische Bild der hämorrhagischen Diathese aufwiesen, eine starke Fibrinogenopenie festgestellt hat.

Er versuchte, dieses Phänomen mit einer mangelhaften Fibrinogenproduktion zu erklären. Irgendwelche Zusammenhänge mit der Fibrinolyse wurden von R i s a k noch nicht beachtet.

Auch bei verschiedenen Tumoren konnte inzwischen eine gesteigerte Blutungsbereitschaft bei gleichzeitig aktivierter Fibrinolyse gefunden werden. Dies ist insofern von Interesse, als auch die Leukämie als "flüssiger Tumor" aufgefaßt werden kann. C l i f f t o n (13) untersuchte mehr als 200 Tumoren auf fibrinolytische Aktivität bzw. Plasminogenaktivator. Er benutzte dazu eine Fibrinplattenmethode und fand, daß z. B. Mammacarcinome und Adenocarcinome einen Plasminogenaktivator enthalten. Aber auch Sarkome zeigten fibrinolytische Aktivität.

Andere Autoren haben entdeckt, daß auch das Prostatacarcinom erhebliche fibrinolytische Aktivität besitzt. So berichten T a g n o n und Mitarbeiter (43), daß bei drei Fällen mit Prostatacarcinometastasen ernste Blutungen auftraten. Sie führten dies auf eine gesteigerte Fibrinolyse zurück, denn sie konnten feststellen, daß sich ein Blutkoagulum dieser Patienten innerhalb weniger Stunden in vitro bei einer Temperatur von 37° C wieder auflöste. Normalerweise braucht ein Koagulum mindestens mehrere Tage für diese Lyse, wenn es sich überhaupt auflöst. T a g n o n konnte auch bei einem dieser Fälle eine Fibrinogenopenie im Blut finden, die anderen wurden leider auf ihren Fibrinogenspiegel hin nicht untersucht.

Bei Lungenoperationen (37), bei Verbrennungen und im Schock (42), ferner bei schweren Lebererkrankungen wurden weitere hämorrhagische Diathesen beschrieben, die auf eine aktivierte Fibrinolyse zurückgeführt wurden.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß es nicht abwegig ist, auch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems als Ursache für die schweren Blutungen bei der Leukämie anzunehmen.

In der Literatur wird in einigen Fällen darüber berichtet. Übereinstimmend berichten die Autoren, daß das Blut der Leukämiepatienten normal gerinnt, sich aber das Blutkoagulum in sehr schneller Zeit wieder auflöst. Weiterhin finden sie sehr häufig eine Fibrinogenopenie, können aber über den Vorgang und die Ursache der Aktivierung der Fibrinolyse wenig oder gar nichts aussagen. Nur die 1963 erschienene Arbeit von J. J ü r - g e n s (24) bringt umfassendere und genauere Ergebnisse. Im Einzelnen wird noch über die Arbeiten in einem gesonderten Kapitel berichtet werden müssen.

Vorweg sei gesagt, daß bei der Leukämie in besonderem Maße die Leukocyten interessieren. Es ist dabei zu klären, ob die Leukocyten selbst mit der Aktivierung der Fibrinolyse in Verbindung stehen. In Anlehnung an E i c h e n b e r g e r und Mitarbeiter (17) haben nämlich D e u t s c h und Mitarbeiter (16) die Vermutung geäußert, daß sich ein Plasminogenaktivator in den Leukocyten befindet. Sie konnten durch Inkubation großer Mengen von Pyrexal mit leukocytenhaltigem

Plasma in vitro eine fibrinolytische Aktivität hervorrufen, was mit leukocytenfreiem Plasma nicht möglich war.

Der vorliegenden Arbeit liegt nun folgende Problemstellung zugrunde:

Auf einen Vorschlag von J. J ü r g e n s hin sollen die aus normalem menschlichen Blut isolierten Leukocyten auf das Vorhandensein eines Plasminogenaktivators untersucht werden. Der festgestellte Aktivatorgehalt in normalen, gesunden Leukocyten soll nun mit dem in leukämischen Leukocyten verglichen werden.

Die Frage lautet, ob man auf eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems bei der Leukämie schließen kann, wenn der Aktivatorgehalt in den Leukocyten verändert ist.

Im theoretischen Teil wird nun kurz über den Vorgang und die Bedeutung der Fibrinolyse - besonders ihrer Aktivatoren - berichtet. Im anschließenden Teil werden die Arbeiten besprochen, die sich bisher mit dem Problem Fibrinolyse und Leukämie befaßt haben.

Im praktischen Teil wird eine genaue Beschreibung der von uns benutzten Technik und Arbeitsweise folgen. Schließlich werden die Ergebnisse mitgeteilt und diskutiert.

A. Theoretischer Teil

I. Zur Geschichte der Fibrinolyse

Es war schon lange bekannt, daß ein Fibrinkoagulum bei längerem Verbleib im Serum sich gelegentlich wieder auflösen konnte. Bis zum Jahre 1933 wußte man nicht mehr, als daß dieser Vorgang spontan ablief oder durch Zugabe von Chloroform hervorgerufen werden konnte. Diese Auflösung nannte *Dastre* 1893 Fibrinolyse.

Erst mit der Entdeckung von *Tillet* und *Garner* (24) im Jahre 1933 begann die fruchtbare Periode der Fibrinolyseforschung. Sie konnten feststellen, daß menschliches Fibrin einer Lyse anheimfällt, wenn dem Plasma vor der Gerinnung ein Kulturfiltrat bestimmter hämolytischer Streptokokken (Gruppe A und C nach *Lancefield*) zugesetzt wird. Die Fibrinolyse blieb aber aus, wenn die Menschen vorher eine Streptokokken-Infektion durchgemacht hatten.

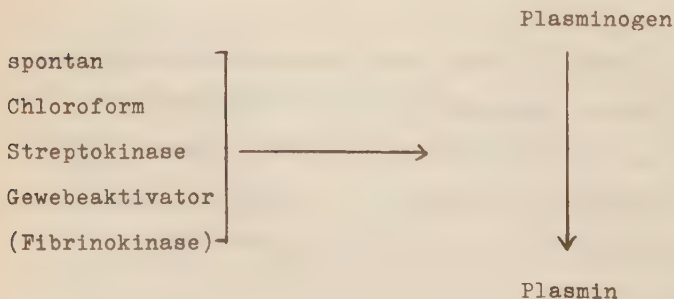
Lilstone (30) fand dann 1941, daß menschliches Fibrin erst nach Zugabe einer menschlichen Globulinfraction durch Streptokokkenkulturfiltrat aufgelöst wird. Er folgerte, daß in der menschlichen Globulinfraction ein Faktor sein müsse, der zur Fibrinolyse notwendig ist. Er bezeichnete diesen Faktor "lytic factor".

K a p l a n (25) konnte 1944 feststellen, daß der "lytic factor" von M i l l s t o n e identisch sein müsse mit dem, der durch Chloroform aktiviert wird.

C h r i s t e n s e n (11) und C h r i s t e n s e n und M a c L e o d (12) erkannten 1945 in dem "lytic factor" eine durch den Streptokokkenfactor aktivierbare Vorstufe eines Fermentes, das in der Lage ist, Fibrinogen, Fibrin, Casein und Gelatine zu verdauen. Diese Autoren waren es auch, die die heute gängigen Namen in das medizinische Schrifttum einführten. Den Streptokokkenfactor nannten sie Streptokinase, den sich nach überstandener Infektion bildenden Antikörper Antistreptokinase. Das Ferment, das Fibrinogen und Fibrin verdauen konnte, bezeichneten sie Plasmin, seine Vorstufe Plasminogen.

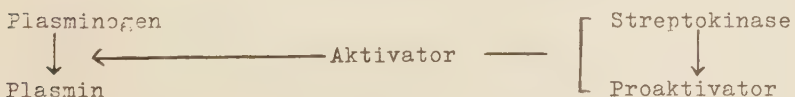
1947 konnten A s t r u p und P e r m i n (9, 10) noch einen Gewebeaktivator nachweisen, den sie Fibrinokinase nannten.

1947 ergab sich dadurch folgendes Schema:

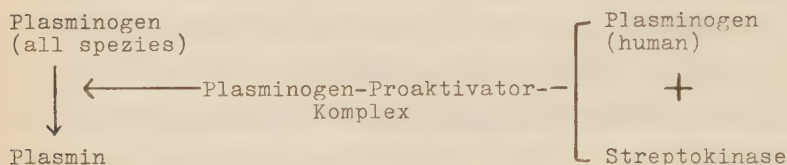


Hatte das fibrinolytische System anfangs auf Grund der Entdeckung der geschilderten Faktoren recht unkompliziert angesehen, so traten jetzt doch Schwierigkeiten im Zusammenhang mit der Beurteilung der Streptokinasewirkung auf. Es bestand ein Unterschied in der Reaktionsweise zwischen der Streptokinase und dem Gewebeaktivator bei der Aktivierung tierischen und menschlichen Plasminogens. Tierisches Plasminogen war gegenüber der Streptokinase völlig indifferent, während menschliches Plasminogen schnell und vollständig aktiviert wurde. Demgegenüber wirkte der Gewebeaktivator auf alle Arten von Plasminogen.

1953 beschäftigten sich M ü l l e r t z und L a s s e n (31) und M ü l l e r t z (32) besonders mit der Wirkungsweise der Streptokinase auf Menschen- und Rinderglobulin. Eine Aktivierung des in dem Rinderglobulin enthaltenen Plasminogens konnte erst dann erfolgen, wenn menschliches Globulin hinzugegeben wurde. Nahmen sie weniger gereinigtes Rinderglobulin, konnten sie aber ebenfalls eine Plasminogenaktivierung feststellen. Sie schlossen daraus, daß während der Reinigung des Rinderglobulins ein Faktor verloren gegangen sein mußte, der noch im menschlichen Globulin enthalten war. Dieser Faktor, sie nannten ihn Proaktivator, mußte erst durch die Streptokinase komplettiert werden, bevor er auf das Plasminogen wirken konnte.



K l i n e und F i s h m a n (26) haben dann 1957 den Proaktivator wieder in Frage gestellt. Sie glauben, daß Proaktivator und Plasminogen identisch sind. Nach ihrer Meinung soll die Streptokinase in stöchiometrischer Reaktionsweise einen Plasminogen-Streptokinase-Komplex bilden, der dann das Plasminogen katalytisch in Plasmin überführt.



Nicht nur im Blut, sondern auch in verschiedenen anderen Körperflüssigkeiten konnten Proaktivator und Aktivator gefunden werden. Bereits 1947 hatten M a c f a r l a n e und P i l l i n g (28) eine fibrinolytische Aktivität in Urin festgestellt. A s t r u p und S t e r n d o r f f (7) und W i l l i a m s (45) konnten dann in den Jahren 1951 und 1952 nachweisen, daß sich große Mengen eines Plasminogen-aktivators, einer Urokinase, im Urin befinden.

Später wurden noch Aktivator und Proaktivator in der Milch (8), der Tränenflüssigkeit (40), im Speichel (1) und in der Spermaflüssigkeit entdeckt. In diesen Drüsensekreten hat der fibrinolytische Mechanismus die Aufgabe, eine Verstopfung der engen Ausführungsgänge durch Fibrin zu verhindern.

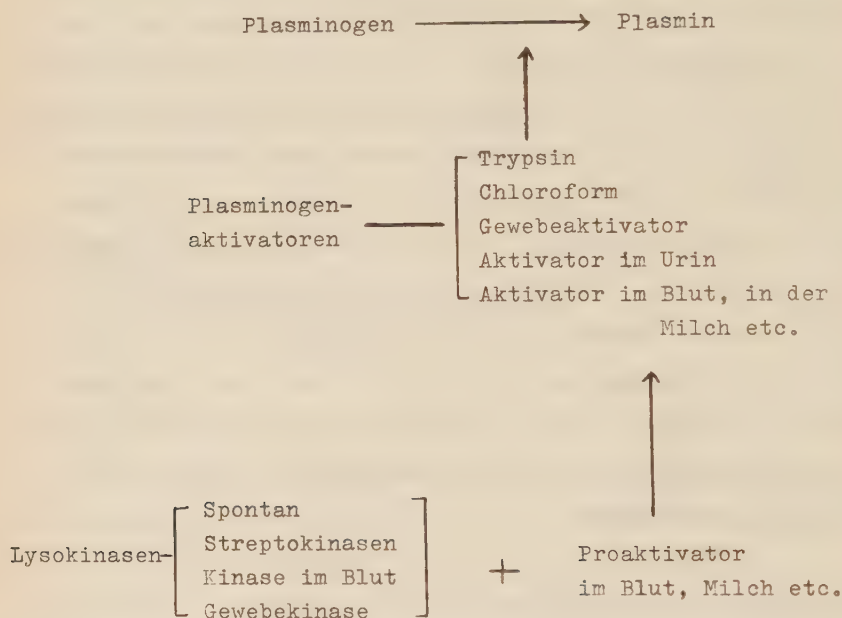
II. Zur Aktivierung des fibrinolytischen Systems

Es steht heute fest, daß der menschliche Organismus in seinem Blut über ein Ferment verfügt, das in der Lage ist, Fibrin und Fibrinogen aufzulösen. Dieses fibrinolytische Ferment, als Plasmin oder Fibrinolysin bezeichnet, findet sich in einer inaktiven Vorstufe, dem Profibrinolysin oder Plasminogen. Bei einer Aktivierung muß das im Blut in der Euglobulinfraktion vorkommende Plasminogen in das aktive Ferment Plasmin umgewandelt werden. Nach der Theorie von A s t r u p (2, 3, 4, 5, 6) erfolgt diese Aktivierung einmal direkt durch komplette Aktivatoren, und einmal indirekt durch einen inaktiven Proaktivator, der aber selbst durch sogenannte Lysokinasen wiederum erst komolettiert werden muß.

Zu den komoletten Aktivatoren zählt A s t r u p einen Blutaktivator, Gewebeaktivatoren und Aktivatoren in den verschiedenen Körperflüssigkeiten. Außerdem ist es möglich, Plasminogen direkt durch Trypsin und Chloroform in Plasmin umzuwandeln.

Zu den Lysokinasen zählen die bekannte Streptokinase und eine später gefundene Staphylokinase, ferner eine Gewebslysokinasen. Diese Gewebslysokinasen wurde ebenfalls von A s t r u p und Mitarbeitern gefunden, sie ist nicht identisch mit dem Gewebeaktivator, der Fibrinokinase.

Schema des fibrinolytischen Systems nach T. A s t r u p :



Die Inhibitoren sind hierbei nicht berücksichtigt.

Vom enzymatisch aktiven Plasmin werden neben Fibrin und Fibrinogen auch Insulin, Gelatine und Kasein angegriffen. Die Verdauung des Kaseins kann zur quantitativen Bestimmung der Fermentaktivität benutzt werden. Plasmin greift auch Gerinnungsfaktoren an, besonders die Faktoren V und VIII (16).

Zum Gewebeaktivator des Plasminogens

Dieser Aktivator, von A s t r u p und P e r m i n (9) 1947 gefunden und Fibrinokinase genannt, befindet sich in großen Mengen in der Lunge, im Herzen, im Gehirn und im Uterus. Es handelt sich um einen wasserunlöslichen, thermostabilen kompletten Aktivator, der direkt das Plasminogen zum Plasmin umwandelt. Dies ist ein Vorgang von hauptsächlich lokaler Bedeutung. Im Gewebe selbst können dadurch Fibringerinnsel beseitigt werden (3).

Wie schon in der Einleitung berichtet, konnte dieser Aktivator auch in den verschiedensten Tumoren gefunden werden. Er hat hier, wie das Beispiel des Prostatacarcinoms zeigt, Bedeutung als Ursache für eine hämorrhagische Diathese.

Für Aktivierung in Körperflüssigkeiten.

Eine besonders große Menge eines kompletten Aktivators wurde im Urin gefunden (7). Dieser Urokinase soll eine erhöhte klinische Bedeutung zukommen, indem sie dazu beiträgt, bei Blutungen aus den Nieren und den ableitenden Harnwegen ausfallende Blutgerinnsel relativ schnell wieder aufzulösen. Dadurch können Stauungserscheinungen und Abflußbehinderungen beseitigt werden.

In anderen Körperflüssigkeiten, wie der Milch (8) und in der Tränenflüssigkeit (40) wurden Proaktivator und Aktivator ge-

funden. Auch der Speichel (1) enthält einen Aktivator. Diese Aktivatoren dienen wohl dazu, die feinen Ausführungsgänge der Drüsen von Fibringerinnsel freizuhalten.

Zur Aktivierung durch Streptokinase und andere Lysokinasen

Die Streptokinase gehört heute zu den am besten erforschten Aktivatoren des fibrinolytischen Systems. Dank der Arbeiten von M ü l l e r t z und Mitarbeiter (31) ist es wahrscheinlich, daß die Streptokinase erst einen Proaktivator aktivieren muß, bevor dann das Plasminogen zu Plasmin umgewandelt werden kann. Allerdings wird dieser Vorgang in dieser Form von anderer Seite (26) abgelehnt und behauptet, Plasminogen und Proaktivator seien identisch.

Bedeutung hat die Streptokinase besonders in der Fibrinolyse-therapie gefunden. Allerdings ist die Gefahr von gefährlichen Nebenwirkungen recht groß.

Bis heute ist noch ziemlich unbekannt, wie die Spontanfibrinolyse zustande kommt. Sie muß physiologischerweise ohne Streptokinase ablaufen. Sehr wahrscheinlich erfolgt die Auslösung über die Freisetzung zellularer Aktivatoren. So nimmt man an, daß der im Plasma gefundene Aktivator auch aus einer Zelle stammt, dort wasserunlöslich ist und beim Austritt aus der Zelle wasserlöslich wird. Die Spontanfibrinolyse unterliegt aber auch weitgehend neuro-vegetativen und innersekretorisch-humoralen Steuermechanismen. (23)

Zur Aktivierung im Blut

Im Blut läßt sich ein Aktivator des Plasminogens und der Proaktivator-Plasminogen-Komplex bestimmen. Über die Herkunft des Aktivators ist bisher wenig bekannt. D e u t s c h und Mitarbeiter (16) haben jedoch festgestellt, daß er aus den Leukocyten stammen muß. Sie konnten nämlich durch Inkubation großer Mengen von Pyrexal mit leukocytenhaltigem Plasma in vitro eine fibrinolytische Aktivität hervorrufen, was mit leukocytenfreiem Plasma nicht möglich war. Nach ihrer Meinung muß es sich um einen Aktivator vom stabilen Typ, also höchstwahrscheinlich um einen Aktivator zellulärer Herkunft handeln. Es gehört mit zu dieser Arbeit, diesen Aktivator in den Leukocyten festzustellen und zu messen.

Zum Inhibitorsystem

Neben den Aktivatoren gibt es eine ganze Reihe von Inhibitoren. Diese müssen erst überwunden werden, wenn freies Plasmin entstehen soll. Bei einem plötzlichen Zusammenbruch dieses Systems kann es zu einer schweren hämorrhagischen Diathese kommen. Im Einzelnen sind etwa folgende Inhibitoren bekannt: ein Antiplasmin, ein Gewebeinhibitor, eine Antistreptokinase und eine Epsilon-Aminocapronsäure, die letztlich alle das Freiwerden und die Wirkung des Plasmins hemmen sollen, auch wenn sie an völlig verschiedenen Punkten des fibrinolytischen Systems angreifen.

Diese Inhibitoren stellen natürlich auch bei der aktiven Fibrinolysetherapie ein schwer zu überwindendes Potential dar. Umgekehrt sind sie auch von Nutzen, wenn fibrinolytische Blutungen beseitigt werden sollen. Durch sogenannte Antifibrinolytica kann heute eine therapeutische Beeinflussung erreicht werden.

III. Fibrinolyse und Leukämie

Ein Zusammenhang zwischen einer hämorrhagischen Diathese und einer Aktivierung des fibrinolytischen Systems ist bei der Leukämie in einigen Fällen beobachtet worden.

So berichten 1954 G i r a u d und Mitarbeiter (19) von einem Fall mit tödlichem Blutungsausgang bei akuter Leukämie. Die Autoren glauben, daß die tödliche Blutung verursacht wurde durch die Fibrinolyse. Für die Aktivierung machen sie einen Mangel an dem Inhibitor Antiplasmin verantwortlich.

Bei den übrigen Arbeiten steht neben der beschleunigten Auflösung eines Blutkoagulums in vitro der Fibrinogenmangel im Vordergrund der Betrachtung. So hatte schon 1935 R i s a k (35) berichtet, daß bei drei Fällen von myeloischer Leukämie eine starke Fibrinogenopenie auftrat. Alle drei Patienten starben an einer hämorrhagischen Diathese. R i s a k sah aber noch keine Zusammenhänge mit einer eventuellen Aktivierung der Fibrinolyse.

Unabhängig voneinander sind 1955 zwei Arbeiten erschienen, die zu dem Ergebnis kommen, daß die hämorrhagische Diathese bei der Leukämie durch die aktivierte Fibrinolyse verursacht sein kann. So berichten C o o p e r b e r g und N e i m a n (15) von einem 49jährigen Mann mit akuter myeloischer Leukämie. Der Patient, der heftiges Zahnfleischbluten hatte und an einer Hematurie litt, verstarb an einer intracraniellen Blutung.

Wenige Tage vor seinem Tode konnte ein deutlicher Fibrinogenmangel festgestellt werden. Dagegen war die Gerinnungszeit, bei 37° C gemessen, normal. Es zeigte sich aber, daß das Blutkoagulum in vitro bereits nach vier Stunden begann, sich wieder aufzulösen. Nach 24 Stunden war das Koagulum völlig der Lyse anheimgefallen.

C o o p e r b e r g und N e i m a n diskutierten dann die Möglichkeiten einer Entstehung der Fibrinogenopenie: Neben der angeborenen Afibrinogenämie, kann ein Mangel an Fibrinogen durch eine Produktionsstörung vorkommen. Die zweite Möglichkeit ist eine intravasale Gerinnung, die dritte der Abbau des Fibrinogens aufgrund einer gesteigerten Fibrinolyse. Die Autoren glauben, daß bei diesem Patienten die Fibrinogenopenie eine Folge der Fibrinolyse ist, und daß die Blutungsneigung Leukämiekranker häufig durch die Fibrinolyse erklärt werden kann.

P i s c i o t t a und S c h u l z (33) berichten von einem ähnlichen Fall. Ein 82jähriger Patient mit akuter Leukämie stirbt an schweren Blutungen in den Gastrointestinaltract und in die Hemisphären des Gehirns. Dieser Patient litt nicht an einer ausgesprochenen Fibrinogenopenie. Um so schneller löste sich aber bei ihm das Blutkoagel in vitro auf. Innerhalb einer Stunde war bei einer Temperatur von 37° C der gesamte Blutkuchen aufgelöst. Auch P i s c i o t t a und S c h u l z sehen in dieser fibrinolytischen Aktivität eine der Hauptursachen für die tödlichen Blutungen.

Auch G o r m s e n (20), der im Rahmen der Behandlung der chronischen Myelose eine Splenectomy durchführte, stellte bei zwei seiner Patienten starke Abdominalblutungen fest. In einem dieser Fälle, der ebenfalls durch eine Fibrinogenopenie gekennzeichnet war, macht er auch eine aktivierte Fibrinolyse für die Blutungen verantwortlich. In dem anderen Fall kann er sich allerdings nicht eindeutig festlegen. G o r m s e n glaubt, daß eine Fibrinolyse, die bereits zu geringem Grade besteht, durch eine Splenectomy gesteigert werden kann. Bei dem ersten seiner Patienten löste sich das geronnen Blut in einer Stunde in vitro wieder auf.

Der Norweger S t o r m o r k e n (41) beschreibt 1956 einen Fall von akuter myeloischer Leukämie mit erheblichen hämorrhagischen Diathesen. Bei dieser Patientin betrug der Fibrinogenspiegel im Blut noch ein Zehntel der Norm. Das Blutkoagulum löste sich hier innerhalb von 24 Stunden wieder auf. S t o r m o r k e n, der ebenfalls ausführlich die Entstehung einer Fibrinogenopenie untersucht, kommt zu dem Schluß, daß die Fibrinolyse die Ursache für den Fibrinogenmangel sein muß. Bei der Lebererkrankung müßte nach seiner Ansicht eine Störung der Gerinnungsfaktoren im Vordergrund stehen. Das liegt aber, so behauptet er, nicht vor.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Autoren alle ein zu schnelles Auflösen des Blutkuchens in vitro gefunden haben. Bei den meisten Fällen, von denen berichtet wurde,

liegt außerdem eine Fibrinogenopenie vor. P i s c i o t t a und S c h u l z (33) machen aber ausdrücklich darauf aufmerksam, daß bei vierzig weiteren Patienten mit Leukämien verschiedenen Typs keine Fibrinogenopenie gefunden werden konnte. Auch konnten sie mit ihrer Methode - sie stellten nämlich die Zeit bis zur Auflösung eines Blutkoagulums fest - keine Anzeichen für eine Fibrinolyse bei diesen vierzig Patienten beobachten. Ferner fällt auf, daß bei allen geschilderten Fällen die Gerinnungszeit normal oder nur geringfügig verändert war. In keiner der geschilderten Arbeiten wurde aber dargelegt, wie und wann die Fibrinolyse bei der Leukämie in Gang kommen kann. Besonders werden die Leukocyten, ihr Anstieg bzw. Abfall oder auch das Differenz-Blutbild nicht in die Diskussion mit einbezogen.

In dieser Hinsicht gibt eine 1960 von v a n C r e v e l d und M o c h t a r (14) veröffentlichte Arbeit mehr Aufschlüsse. Sie berichten von einem fünfjährigen Kind, das an akuter Leukämie erkrankt war. Das Kind zeigte keine hämorrhagischen Diathesen und das Blut enthielt in normaler Menge Fibrinogen. Die Gerinnungszeit war nicht verlängert. Trotzdem konnten die Autoren eine Fibrinolyse in vitro beobachten. Ein Blutkoagulum löste sich bei 37° C innerhalb von 24 Stunden im Serum wieder völlig auf. Mit Hilfe der Astrup-Plattenmethode konnten sie eine Bestätigung der fibrinolytischen Aktivität des Serums finden. Die Fibrinolyse wurde während einer vollen Remission des Blutes gefunden. Unter Prednison Behandlung fielen die Leukocyten von 300.000 auf 6.800 im

mm³, während die Thrombocyten im peripheren Blut von anfänglich 4.000 auf 400.000 anstiegen. Auch das Differenz-Blutbild normalisierte sich.

Die Autoren glauben nun, daß die in vitro - nicht in vivo - gefundene Fibrinolyse ihre Ursache nicht im Plasma, sondern in dem schnellen Anstieg der Thrombocyten oder in der Verminderung der Leukocyten findet.

Die ausführlichste Arbeit wurde 1963 von J. J ü r g e n s (24) veröffentlicht. In einer umfangreichen Untersuchung an 53 Patienten mit lymphatischer, myeloischer und Paramyelo-blastenleukämie fand sich regelmäßig eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems im Plasma, soweit in der Peripherie die Leukocytenzahlen vermehrt waren. Für die Vermehrung der gesamtfibrinolytischen Aktivität im Plasma war eine Zunahme des Plasminogenaktivators verantwortlich. Die Inhibitoren des fibrinolytischen Systems zeigten im wesentlichen keine Verschiebungen.

J. J ü r g e n s kommt zu dem Schluß, daß die schweren Blutungen bei Leukosen bedingt sind durch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems. Diese Aktivierung kommt sehr wahrscheinlich durch Freisetzung des Plasminogenaktivators beim Zerfall der Leukocyten zustande. Im Rahmen dieser und der hier vorliegenden Arbeit wurden die Leukocyten einiger Leukämiekranker isoliert und die Aktivator-Aktivität in diesen gemessen.

B. Experimenteller Teil

In diesem Abschnitt wird eine Beschreibung der Methode und der Arbeitsweise gegeben. Anschließend werden die Ergebnisse mitgeteilt und diskutiert.

I. Allgemeine Arbeitsweise

Bevor Messungen durchgeführt werden konnten, war es wichtig, gewaschene Leukocytensuspensionen herzustellen. Die auf eine bestimmte Zelldichte eingestellten Suspensionen wurden dann den Fibrinolyseansätzen zugefügt und die Aktivatoraktivität gemessen.

Als Glasmaterial wurden nur silikonisierte Röhrchen verwendet. Die Spritzen zur Blutentnahme waren vorher mit Vaseline gefettet. Dadurch kann ein ähnlicher Effekt erzielt werden wie bei silikonisiertem Glas: Die Zellen, besonders die Thrombocyten werden vor der Zerstörung bewahrt. Zum Pipettieren wurden neben größeren Strichpipetten auch sogenannte Zuckerpipetten benutzt. Die Pipette wird durch einen Gummischlauch mit einer gefetteten Spritze verbunden. Die Spritze eignet sich gut zur Luftansaugung, und über diese Sogwirkung kann durch Betätigung des Spritzenstempels der Pipettengehalt genau eingestellt werden. Dadurch sind die Gefahren des Mundsaugens gebannt.

Die Glasgeräte wurden alle gründlich gereinigt, mit destilliertem Wasser gespült und im Heißluftschrank bei 160°C über eine Stunde getrocknet.

Zum Bebrüten der Ansätze diente ein Brutschrank, der die Temperatur konstant auf 37° C hielt. Filtrate, die einige Stunden aufgehoben werden mußten, wurden eingefroren.

Zur Messung der Extinktionen fand der Eppendorf-Photometer Verwendung. Zur Berechnung der freigesetzten Gamma Tyrosin pro Stunde diente eine Eichkurve, die noch später besprochen werden wird.

II. Die Herstellung der Leukocyten suspensionen

Die Herstellung der Leukocyten suspensionen erfolgte nach einer Technik von E n g e l f r i e t und v a n L o g h e m (18). Diese Methode wurde aber in den Laboratorien der Blutspendezentrale der Frankfurter Universitätskliniken (Leitung: W. S p i e l m a n n) erheblich modifiziert und vom Verfasser für seine Versuchszwecke weiter ausgebaut. Zuvor wurden Versuche durchgeführt, denen Techniken von M a u p i n und D a u s s e t zugrunde lagen (29). Die Ergebnisse waren nicht günstig. Viel zu lange dauerte es, bis die Leukocyten isoliert waren, auch traten zu leicht Agglutinationen auf.

Die Isolierung der Leukocyten beruht bei E n g e l f r i e t und v a n L o g h e m auf der Dextranmethode. Es handelt sich hierbei um eine Sedimentationsmethode, bei der besonders schnell die Erythrocyten sedimentieren. Zur Aufhebung der Gerinnung verwandten E n g e l f r i e t und v a n L o g h e m EDTA (Äthylen-diamino-tetraacetat).

Im Einzelnen gingen wir folgendermaßen vor:

In ein silikonisiertes Wassermannröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 10 ml wurden zur Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit 1 ml einer 1 %igen Komplexonlösung und zur Sedimentationsbeschleunigung 2,5 ml einer 5 %igen Kollidonlösung gegeben. Das Komplexon steht dem EDTA sehr nahe und wird mit der Bezeichnung Komplexon III als Pulver in den Handel gebracht.* Das Kollidon ist eine 25 %ige Lösung von Polyvinylpyrrolidon ** mit einem mittleren Molekulargewicht von 30.000. Durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung kann die Kollidonlösung auf 5 % eingestellt werden. Auch das Komplexon wird in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.

Nachdem Kollidon und Komplexon in das Wassermannröhrchen gegeben worden sind, wird nun der Rest mit Blut aufgefüllt und gut geschüttelt. Wenn viel Blut verarbeitet werden mußte, wie bei der Isolierung der Leukocyten aus Normalblut, so war es besser, die Komplexonlösung vor der Blutentnahme den evakuierten Blutkonservenflaschen in ausreichender Menge beizugeben. Erst anschließend wurde das so ungerinnbar gemachte Blut auf die mit Kollidonlösung versehenen Röhrchen verteilt.

Wurden aber nur 10 ml Blut gebraucht, - leukämiekrankes Blut

* Siegfried AG, Zofingen, Schweiz

Vertrieb durch Gerhard Jakoby, Hamburg 24, Lerchenfeld 14

** Bayer-Leverkusen

enthält häufig so viele Leukocyten, daß für die Versuche wesentlich weniger Blut ausreichte - , so entnahm man das Blut mit einer gefetteten Spritze, in die vorher ausreichend Komplexonlösung gegeben worden war. Erst dann wurde das Blut in das mit Kollidonlösung vorbereitete Wassermannröhrchen gefüllt. Wichtig war, daß jedesmal gut durchgeschüttelt wurde.

Die Röhrchen blieben nun eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Anschließend wurden sie noch eine weitere halbe Stunde bei 37 ° C in einem Brutschrank inkubiert. Innerhalb dieser Zeit bildete sich eine charakteristische Sedimentation. Zuerst sedimentierten die Erythrocyten als dicke rote Schicht. Darüber bildete sich eine mehr oder weniger starke graue Ablagerung, die aus Leukocyten bestand. Ein Großteil der weißen Blutkörperchen befand sich aber noch zusammen mit Thrombocyten und wenigen Erythrocyten in dem darüber schwimmenden Plasma. Das Plasma und die dünne Schicht Leukocyten wurden vorsichtig abpipettiert, wobei die Erythrocyten nicht aufgewirbelt werden durften.

Bei 2.000 U/Min. mußte jetzt fünf Minuten lang zentrifugiert werden. Um Agglutinationen zu vermeiden, wurde der Bodensatz sofort wieder in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Durch das Zentrifugieren konnte ein Großteil der Blutplättchen beseitigt werden, da diese bei der angegebenen Zentrifugengeschwindigkeit noch im überstehenden Plasma zurückblieben, während sich im Bodensatz hauptsächlich Leukocyten befanden.

Das nun etwas gereinigte Konzentrat wurde wiederum eine halbe Stunde stehengelassen. Hatten sich die weißen Blutzellen erneut abgesetzt, so wurde das Überstehende weggegossen und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. War der Reinheitsgrad der Leukocyten-Suspension noch nicht ausreichend, wurde die beschriebene Sedimentation ein weiteres Mal durchgeführt.

Danach konnte die Leukocytendichte durch Zählung in der Thomas-Zeisschen-Kammer bestimmt werden. Um möglichst genaue Werte zu bekommen, wurde in der Regel viermal gezählt und das arithmetische Mittel als Wert angenommen. Anschließend konnte durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung die gewünschte Zahl eingestellt werden. Eine Kontrollzählung mußte diese Zahl bestätigen. Das Auffüllen der Zählpipette erfolgte - wie gewöhnlich bei Leukocytenzählung - mit dreiprozentiger Essigsäure. Auf diese Weise wurden nur die Leukocyten gezählt, da die anderen Zellen zerstört wurden. Der Reinheitsgrad der letzten Suspension war gut, denn 90 - 95 % der Zellen waren Leukocyten, der Rest Thrombocyten und einige wenige Erythrocyten.

Um genügend Leukocyten zu erhalten, waren von gesundem Blut etwa 80 ml, von leukämiekranken Blut manchmal nur 10 ml notwendig. Es wurde nur Frischblut verarbeitet. Spätestens drei Stunden nach Blutentnahme waren die Leukocyten-Suspensionen auf die Fibrinolyseansätze verteilt. Für die Fibrinolyseansätze erwies sich eine Suspension, die 10.000 Leukocyten/mm³ enthielt, als sehr günstig.

Nicht möglich war es, die Leukocyten suspensionen einzufrieren. Beim Auftauen kam es zu starken Agglutinationen, die eine gleichmäßige Verteilung der Zellen unmöglich machten.

III. Die Bestimmung der Aktivität des in den Leukocyten vorkommenden Aktivators - Beschreibung der Methode -

In Anlehnung an die Methoden von R e m m e r t (34) und S g o u r i s (38) hat J. J ü r g e n s eine Methode ausgearbeitet, die es erlaubt, einzelne Faktoren des fibrinolytischen Systems unter Verwendung kleinster Mengen von Untersuchungsmaterial zu messen (Mikromethode). Es handelt sich hierbei um eine Kaseinmethode, mit der wir den Aktivatorgehalt in den Leukocyten bestimmen konnten. Zur Kontrolle mußte natürlich auch ein eventueller Plasmingehalt berücksichtigt werden.

Der Kaseinmethode zur Bestimmung der Aktivatoraktivität liegt folgendes Prinzip zugrunde:

Wie schon lange bekannt ist, wird von dem enzymatisch aktiven Plasmin nicht nur Fibrin und Fibrinogen, sondern auch Kasein abgebaut. Bei unserem Ansatz entsteht dabei das Plasmin aus dem vorhandenen Plasminogen bei Anwesenheit eines im Untersuchungsmaterial (Leukocyten) vorhandenen Plasminogen-Aktivators. Beim Abbau des Kaseins wird u. a. auch Tyrosin gebildet, das nach dem Ausfällen und Abfiltrieren des Restkaseins gemessen werden kann, indem sich bei Zugabe der

Folin-Ciocalteau-Reagenz ein blauer Farbstoff bildet. Die Intensität der Farbentwicklung entspricht der in Freiheit gesetzten Menge Tyrosin und damit letztlich der fibrinolytischen Aktivität.

Als Plasminogenquelle benutzten wir Rinderfibrinogen der Behringwerke. Wichtig ist, daß in den Ansätzen immer Plasminogen im Überschuß vorhanden ist, d. h. daß bei der totalen Umsetzung des Plasminogens bei einer Temperatur von 37° C und einem pH von 7,6 1.000 Gamma Tyrosin pro Stunde entstehen müssen. Das entspricht etwa einer Menge von 3.000 mg % Rinderfibrinogen. Jede Charge Rinderfibrinogen muß neu untersucht werden, damit sie den geforderten Bedingungen entspricht.

Für unsere Ansätze werden nur silikonisierte und sterile Reagenzgläser benutzt.

Bei der Messung der Aktivatoraktivität waren pro Ansatz notwendig:

- 0,1 ml Leukocytensuspension
- 0,1 ml Rinderfibrinogen (3.000 mg %)
- 0,1 ml Pufferlösung (pH 7,6)
- 0,2 ml Kaseinlösung (vierprozentig)

Die Leukocytensuspension war in der beschriebenen Methode nach Engelfried und van Loghem gewonnen worden. Das Rinderfibrinogen gab es in Röhrchen zu 60 mg, die in 2 ml Pufferlösung (pH 7,6) aufgelöst wurden. Von dem gelösten Rinderfibrinogen wurden dann pro Ansatz

0,1 ml verbraucht. Bei der benutzten Pufferlösung handelt es sich um einen Diäthylbarbitursäurepuffer mit einem pH von 7,6. Die vierprozentige Kaseinlösung wurde auf folgende Art und Weise hergestellt:

In einer Mischung aus 50 % Puffer und 50 % physiologischer Kochsalzlösung mußten 4 g% Kasein gelöst werden. Nach einer Kochzeit im Wasserbad von einer Stunde war auf 20° C abzukühlen und ein pH von 7,6 einzustellen. Eventuell mußte bis zur völligen Auflösung des Kaseins weitergekocht werden. Anschließend wurde mit Puffer bis zur ursprünglichen Menge wieder aufgefüllt, der pH erneut eingestellt und die Lösung schließlich auf sterile Reagenzgläser verteilt. Zur Konservierung mußte die Kaseinlösung im Tiefkühlschrank eingefroren werden. Für jeden Fibrinolyseansatz taute man dann ein Röhrchen auf.

Zur Bestimmung der Aktivatoraktivität waren mindestens zwei Ansätze nötig. Einer der beiden diente als Leeransatz und wurde sofort mit 0,8 ml Trichloressigsäure enteiweißt, durch einen Blaubandfilter gefiltert und das Filtrat eingefroren.

Um größere Genauigkeit erzielen zu können, wurden pro Bestimmung mehrere Ansätze vorgenommen. In der Regel waren es zwei Leeransätze und zwei Ansätze, die bebrütet wurden. Anschließend diente das arithmetische Mittel als Wert.

Die Inkubationszeit pro Ansatz betrug konstant fünf Stunden bei 37° C. Ansätze, die länger bebrütet worden waren, zeig-

ten nachher eine zu große Farbentwicklung, wenn die Folin-Ciocalteu-Reagenz hinzugefügt wurde. Nach fünf Stunden Inkubationszeit wurde der Ansatz sofort enteilt und gefiltert.

Zur Farbentwicklung mußten 0,4 ml dieses Filtrates, das das Tyrosin enthielt, mit der Folin-Ciocalteu-Reagenz behandelt werden:

0,4 ml Filtrat

0,2 ml NaOH

0,7 ml Aqua destillata

0,6 ml Na_2CO_3

0,2 ml Phenolreagenz

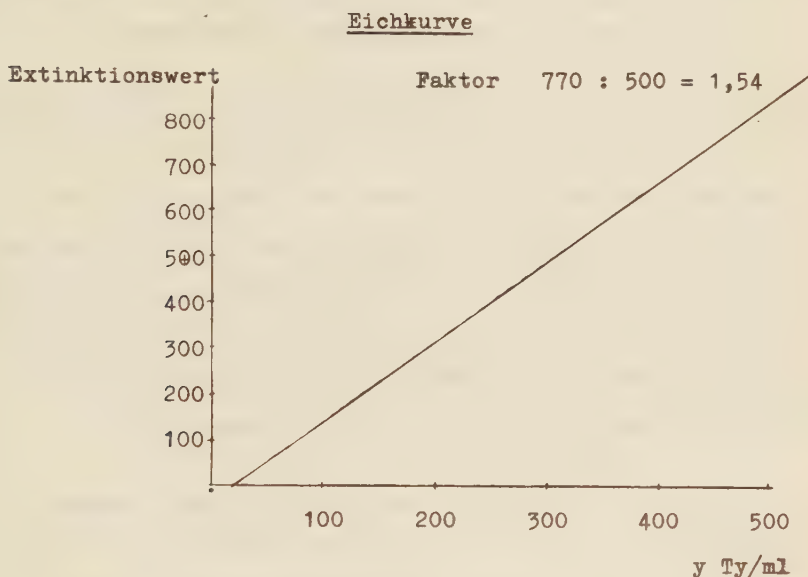
(1:3 verdünnt mit Aqua dest.)

In gleicher Weise wurde der Leeransatz behandelt. Nach zwanzig Minuten konnte die Extinktion im Eppendorf-Photometer gemessen werden. Der Leeransatz wurde dabei gegen Aqua destillata gemessen, die anderen Ansätze schließlich gegen den Leeransatz, nachdem der Photometer entsprechend eingestellt worden war. Benutzt wurden sogenannte Mikrocuvetten und der Filter 574 im Eppendorf.

Um aus den festgestellten Extinktionswerten die freigesetzte Menge Tyrosin pro Stunde berechnen zu können, war eine Eichkurve nötig.

Bei der Herstellung der Eichkurve wurde in wechselnder Menge

Tyrosin einem Ansatz aus Puffer und Kasein zugesetzt, enteiweißt, gefiltert und mit der Folin-Ciocalteau-Reagenz behandelt. Die gemessenen Extinktionswerte wurden in ein Diagramm eingesetzt:



Aufgrund der Eichkurve errechnet sich ein Faktor von 1,54, durch den jeder Extinktionswert unserer Aktivatormessungen anschließend dividiert werden muß, um die freigesetzte Menge Tyrosin pro Stunde zu erhalten. Es ist aber dabei zu achten, daß der gemessene Extinktionswert vorher durch die Anzahl der bebrüteten Stunden (in unserem Fall: 5) dividiert wurde.

Bestimmung des Plasmingehaltes

Da eine Aussage über die Aktivatoraktivität nur dann gemacht werden kann, wenn der Plasmingehalt bekannt ist, war es notwendig, auch diesen in den Leukocyten zu bestimmen.

Das Prinzip ist dem der Aktivatormessung sehr ähnlich, nur daß kein Plasminogen dem Ansatz beigegeben wird. Dadurch bleibt der Aktivator in den Leukocyten ohne Einfluß. Es wird nur der Plasmingehalt des Untersuchungsmaterials (Leukocyten) festgestellt. Befände sich ein Plasmingehalt in den Leukocyten, müßte er bei der Berechnung der Aktivatoraktivität berücksichtigt werden, denn bei der Messung der Aktivatoraktivität wird ja der Plasmingehalt der Leukocyten mitgemessen.

Zur alleinigen Plasminbestimmung diene folgender Ansatz:

0,1 ml Leuco.-Suspension

0,2 ml Puffer (pH 7,6)

0,2 ml Casein

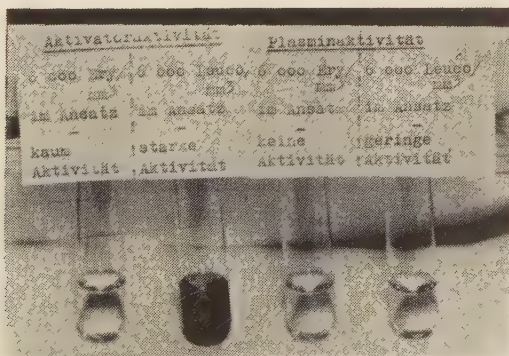
Ein Leeransatz wurde ebenfalls sofort enteiweißt, gefiltert und eingefroren. Ein weiterer Ansatz wurde eine Stunde lang bei 37° C inkubiert.

Nachdem wiederum mit 0,8 ml TCE enteiweißt und durch Blau-bandfilter gefiltert worden war, behandelten wir je 0,4 ml Filtrat mit der Folin-Ciocalteau-Reagenz. Nach der Farbentwicklung wurde gegen den Leeransatz die Extinktion gemessen. Bei mehrmaligen Versuchen konnte jedoch kein Plasmin in den Leukocyten gefunden werden, zumindest waren die Werte äußerst gering.

IV. Untersuchungsergebnisse

Mit den beschriebenen Methoden wurde zuerst die Aktivatoraktivität in normalen gesunden Leukocyten gemessen. Sechs völlig voneinander verschiedene Versuche wurden durchgeführt. Auch von sechs Leukämiepatienten konnten die Leukocyten dargestellt und der Aktivatorgehalt bestimmt werden.

Da die Darstellung der Leukocyten auf einer fraktionierten Sedimentation beruht, ist es nicht zu vermeiden, daß geringe Spuren von Erythrocyten sich in den Suspensionen befinden. Wenngleich diese auch weniger als 5% betragen, so war es doch wichtig, zur Kontrolle den Aktivatorgehalt zu bestimmen. Es wurden deshalb reine, gewaschene Erythrocyten auf die Dichte von 6.000 Zellen pro mm^3 eingestellt und diese Suspension den Fibrinolyseansätzen zugefügt. Es zeigte sich eine äußerst geringe Aktivität an Plasmin und Aktivator, so daß die Verunreinigung mit Erythrocyten vernachlässigt werden kann.



a) Bestimmung der Aktivatoraktivität
pro Normalleukocyt

Die Suspensionen waren auf eine Dichte von 10.000 Zellen pro mm^3 eingestellt. Im Ansatz waren 10^6 Zellen, da 0,1 ml der Leukocyten-Suspension gebraucht wurden. Nach einer Inkubationszeit von fünf Stunden ergaben sich folgende Extinktionswerte:

270, 180, 255, 240, 255, 230.

Im Durchschnitt errechnet sich daraus aufgrund der Eichkurve eine Aktivatoraktivität von:

$$\frac{31,15 \times 10^{-6} \text{ Gamma Tyrosin pro Stunde und}}{\text{pro Normalleukocyt}}$$

Wenn man eine physiologische Leukocytendichte von 6.000 Zellen pro mm^3 im Blut annimmt, so ergibt sich eine Aktivatoraktivität von:

$$\frac{186,9 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}}{\text{y Ty/h}}$$

Dieser letzte Wert ist natürlich nur ein Annäherungswert, da 6.000 Leukocyten pro mm^3 einen Durchschnittswert darstellen. Dieser Wert soll später helfen, die Unterschiede zwischen Normal- und Leukämieblut in Bezug auf den Aktivatorgehalt in den Leukocyten zu verdeutlichen.

b) Bestimmung der Aktivatoraktivität leukämischer
Leukocyten von sechs verschiedenen Patienten

Fall 1:

Ein 42 jähriger Patient wurde am 17.3. in die Klinik mit chronischer Myelose eingeliefert. Bereits am 2.4. wurden Leukocytenwerte von 112.000 pro mm³ gezählt. Unter Decortin, Myleran und Neotebenbehandlung trat eine Remission ein. Die Leukocyten fielen auf 18.000 pro mm³. Doch Anfang Mai verschlechterte sich der Zustand des Patienten erneut. Die chronische Myelose ging in eine Paramyeloblastenleukämie über. Es wurden jetzt 120.000 Leukocyten, vorwiegend sehr unreife Formen, gezählt. Anfang April, als die Leukocytenwerte bereits sehr hoch waren, konnten bereits Petechien beobachtet werden. Jetzt aber traten erhebliche Hautblutungen auf. Eine massive Blutung in den Kleinhirn-Brückenwinkel setzte dem Leben des Patienten am 12. Mai ein Ende.

Bei dem Patienten konnte zu vier verschiedenen Zeitpunkten die Aktivatoraktivität in den Leukocyten bestimmt werden.

1. Untersuchung am 2.4.:

Leuco	112.000	Diff.-Bild	
Thrombo	30.000	Mybl	2
		Promy	12
		My	13
		Metmy	11
		Stab	7
		Segm	53
		Lymph	2

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$6,2 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 112.000 Leuco/mm³:

$$696,4 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

2. Untersuchung am 13.4.:

Leuco	48.000	Diff.-Bild	
Thrombo	24.000	Mybl	0
		Promy	12
		My	18
		Stab	15
		Segm	51
		Lymph	3
		Plasmz	1

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$16,3 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 48.000 Leuco/mm³:

$$782,4 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

3. Untersuchung am 25.4.:

Leuco	18.000	Diff.-Bild	
Thrombo	34.000	Mybl	2
		Promy	1
		My	1
		Stab	4
		Segm	87
		Lymph	5

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$28,1 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 18.000 Leuco/mm³:

$$505,8 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

4. Untersuchung am 10.5.:

Leuco	120.000	Diff.-Bild	
Thrombo	24.800	Mybl	70
		Promy	5
		My	3
		Metmy	1
		Stab	1
		Segm	17
		Eos	2
		Lymph	2

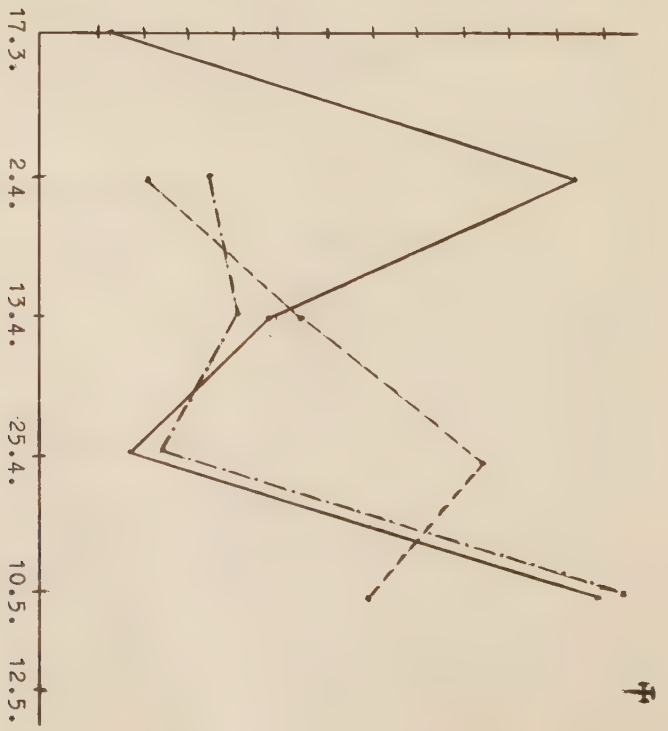
Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$21,5 \times 10^{-6} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 120.000 Leuco/mm³:

$$2.580,0 \times 10^{-3} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

y Ty/h	Leuco	y Ty/h
Banz.Leuc.		Ges.Leuc.
120.000		2.400×10^{-3}
110.000		2.200×10^{-3}
100.000		2.000×10^{-3}
90.000		1.800×10^{-3}
80.000		1.600×10^{-3}
70.000		1.400×10^{-3}
60.000		1.200×10^{-3}
50.000		1.000×10^{-3}
40.000		800×10^{-3}
30.000		600×10^{-3}
20.000		400×10^{-3}
10.000		200×10^{-3}



Tabl. Nr. 1
(Patient 1)

Leuco/mm³ —
 Aktivität pro Leucocyt ---
 Gesamtaktivität der Leucocyten/mm³ -.-.-

Diskussion zu Fall 1

Es zeigt sich deutlich, daß die Aktivatoraktivität der Einzelzelle erheblichen Schwankungen unterworfen ist. Die leukämische Zelle besitzt teilweise nur ein Fünftel der Normalaktivität. Interessant ist es, daß die höchste Aktivität bei der niedrigsten Leukocytenzahl ($28,1 \times 10^{-6}$ y Ty/h bei $18.000 \text{ Leuco/mm}^3$) erreicht wird. Bei den sehr hohen Leukocytenwerten treten unterschiedliche Aktivitäten auf, zuerst eine sehr niedrige, kurz vor dem Tod eine relativ hohe.

Rechnet man die Aktivatoraktivität auf die Leukocytenzahl pro mm^3 um, so ergeben sich Werte, die erheblich über der Norm liegen. So wird bei der Messung zwei Tage vor dem Tod etwa die 12fache Norm erreicht. (2.580×10^{-3} y Ty/h gegenüber $186,9 \times 10^{-3}$ y Ty/h).

Jedesmal, wenn die Aktivitäten auf den mm^3 umgerechnet sehr hoch sind, zeigen sich Petechien und Blutungen. Der Tod erfolgt schließlich durch eine massive Hirnblutung. Aus diesen Berechnungen läßt sich durchaus folgern, daß eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems bei der Leukämie möglich ist.

Fall 2:

Bei dem zweiten Patienten handelt es sich um einen über 50 Jahre alten Mann, der an einer chronischen Myelose erkrankt war. Der Patient litt an erheblichen Haut- und Schleimhautblutungen.

Bei ihm konnte dreimal die Aktivatoraktivität in den Leukocyten bestimmt werden:

1. Untersuchung am 25.4.:

Leuco	78.000	Diff.-Bild	
Thrombo	11.000	Mybl	12
		Promy	10
		My	16
		Meta	25
		Seg	25
		Lymph	10
		Eos	2

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$13,3 \times 10^{-6} \quad y \quad Ty/h$$

Aktivatoraktivität von 78.000 Leuco/mm³:

$$1.037,4 \times 10^{-3} \quad y \quad Ty/h$$

2. Untersuchung am 30.4.:

Leuco	99.000	Diff.-Bild	
Thrombo	76.000	Mybl	20
		Promy	30
		Segm	25
		Meta	10
		Lymph	15

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$12,8 \times 10^{-6} \quad y \quad Ty/h$$

Aktivatoraktivität von 99.000 Leuco/mm³:

$$1.267,2 \times 10^{-3} \quad y \quad Ty/h$$

3. Untersuchung am 10.5.:

Leuco	140.000	Diff.-Bild	
Thrombo	16.000	Mybl	25
		Promy	20
		My	16
		Meta	10
		Segm	15
		Eos	2
		Bas	2
		Lymph	10

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$15,0 \times 10^{-6} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 140.000 Leuco/mm³:

$$2.100,0 \times 10^{-3} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

Diskussion zu Fall 2

Der zweite Fall bestätigt die Ergebnisse des ersten. Die Aktivatoraktivität des Einzelleukocyten bleibt auch hier unter der Norm, ist aber bei diesem Patienten sehr beständig. Sehr hoch ist die Gesamtaktivität der vielen Leukocyten im mm³. Die starken Blutungen können auch bei diesem Patienten durch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems begünstigt sein.

Fall 3:

Der dritte Patient war 63 Jahre alt. Die Diagnose lautete: Chronisch myeloische Leucose. Beim Patienten bestand Neigung zu hämorrhagischen Diathesen.

Der Leukocytenaktivator wurde zweimal bestimmt.

1. Untersuchung am 8.4.:

Leuco	39.800	Diff.-Bild	
Thrombo	80.340	Mybl	6
		Promy	15
		My	14
		Jug	12
		Stab	20
		Segm	19
		Eos	3
		Lymph	8
		Mon	3

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$26,5 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 39.800 Leuco/mm³:

$$1.054,7 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

2. Untersuchung am 13.4:

Leuco	36.800	Diff.-Bild	
Thrombo	74.000	Mybl	1
		Promy	14
		My	7
		Jug	16
		Stab	20
		Segm	34
		Lymph	2
		Eos	1
		Mono	5

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$21,3 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 36.800 Leuco/mm³:

$$783,8 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

Diskussion zu Fall 3

Auch hier liegt die Aktivatoraktivität pro Einzelleukocyt unter der der gesunden Zelle, die Gesamtaktivität pro mm³ doch wieder sehr darüber.

Fall 4:

Der 72jährige Patient war an einer Paramyeloblastenleukämie erkrankt. Der Patient verstarb innerhalb weniger Tage. Bei ihm wurden zwei Messungen vorgenommen:

1. Untersuchung am 24.4.:

Leuco	27.600	Diff.-Bild	
Thrombo	44.600	Mybl	47
		Promy	4
		My	21
		Jug	2
		Stab	2
		Segm	16
		Mo	1
		Lymph	7

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$3,3 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 27.600 Leuco/mm³:

$$91,1 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

2. Untersuchung am 30.4.:

Leuco	22.000	Diff.-Bild	
Thrombo	7.600	Mybl	55
		Promy	2
		My	19
		Jug	3
		Stab	3
		Segm	9
		Eos	1
		Bas	1
		Lymph	9

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$4,7 \times 10^{-6} \text{ y Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 22.000 Leuco/mm³:

$$103,4 \times 10^{-3} \text{ y Ty/h}$$

Diskussion zu Fall 4

Auffallend ist die geringe Aktivatoraktivität der, wie aus dem Blutbild ersichtlich, sehr unreifen Zellen.

Auch die Gesamtaktivität der Leukocyten pro mm^3 ist sehr gering. Interessanterweise war auch bei diesem Patienten von einer Neigung zu einer hämorrhagischen Diathese nichts bekannt.

Fälle 5 und 6:

Bei diesen beiden Patienten handelt es sich um chronische lymphatische Leukosen. Das Diff.-Blutbild ergab zu 95% Lymphocyten.

Fall 5:

1. Untersuchung:

Leuco 47.000

Thrombo 134.000

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$17,6 \times 10^{-6}$ y Ty/h

Aktivatoraktivität von 47.000 Leuco/ mm^3 :

$827,2 \times 10^{-3}$ y Ty/h

2. Untersuchung (fünf Tage später):

Leuco 41.000

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$4,4 \times 10^{-6}$ y Ty/h

Aktivatoraktivität von 41.000 Leuco/ mm^3 :

$170,4 \times 10^{-3}$ y Ty/h

Fall 6:

1. Untersuchung am 4.5.:

Leuco 40.000

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$2,9 \times 10^{-6} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 40.000 Leuco/mm³:

$$116,0 \times 10^{-3} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

2. Untersuchung am 10.5.:

Leuco 50.000

Aktivatoraktivität pro Leukocyt:

$$12,4 \times 10^{-6} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

Aktivatoraktivität von 50.000 Leuco/mm³:

$$620,0 \times 10^{-3} \quad y \quad \text{Ty/h}$$

Diskussion zu den Fällen 5 und 6

Hier zeigt das Bild Schwankungen, ohne daß sich das Diff.-Blutbild wesentlich ändert. Auch die Leukocytenzahl bleibt ziemlich konstant. Die Aktivatoraktivität pro Leukocyt ist teilweise auffallend gering. Daraus eine Aussage ableiten zu wollen, daß Lymphocyten sehr wenig Aktivator enthalten, erscheint aber sehr gewagt.

V. Beurteilung der Untersuchungsergebnisse

Es konnte prinzipiell festgestellt werden, daß sich ein Aktivator des Plasminogens in den Leukocyten befindet. Damit hat

sich die Vermutung von D e u t s c h und Mitarb.(16) bestätigt. 1 mm³ gewaschene, rein dargestellte Leukocyten mit einer Dichte von 6.000 Zellen ergibt einen Aktivatorgehalt von $186,9 \times 10^{-3}$ y Ty/h. Der Aktivator im Blut könnte also durchaus zellulärer Herkunft sein.

Der Vergleich des Aktivatorgehaltes mit dem von Leukocyten leukämiekranker Patienten ergab interessante Unterschiede. Er war nahezu immer deutlich niedriger in den leukämischen Leukocyten.

Normalleukocyt	31,15 x 10 ⁻⁶	y Ty/h
Leukäm. Leucocyt	2 - 28 x 10 ⁻⁶	y Ty/h

Es zeigt sich also, daß der leukämische Leucocyt auch in Bezug auf den Aktivatorgehalt minderwertiger ist. Es bestehen Anzeichen dafür, daß Lymphocyten und die unreifen Formen der myeloischen Reihe den geringsten Aktivatorgehalt besitzen. In einem Fall (s. Fall 1) konnte aber auch gezeigt werden, daß Myeloblasten noch reichlich Aktivator enthalten können. Hier können nur weitere Untersuchungen zu einer Klärung führen.

Die Minderwertigkeit des leukämischen Leukocyten schließt aber nicht aus, daß die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen eine erhebliche Menge an Aktivator darstellt. Bei dem ersten Patienten konnte zwei Tage vor einer tödlichen Hirn-

blutung ein Aktivatorgehalt gemessen werden, der, bei der großen Dichte der Leukocyten im mm^3 , Werte ergab, die um mehr als das zwölfwache über dem Physiologischen lagen. Bei diesem Patienten ist es durchaus möglich, daß die tödliche Hirnblutung durch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems mitverschuldet werden konnte, zumal die Thrombocytenwerte nicht allzu weit unter der Grenze von 30.000 lagen. 30.000 Thrombocyten werden als Grenzwert angenommen, darunter ist mit Blutungen zu rechnen.

Interessant war auch festzustellen, daß im Remissionsstadium der Aktivatorgehalt pro Leukocyt wieder anstieg und sich der Norm näherte.

VI. Diskussion

Es wurde in den letzten Jahren in einigen Fällen festgestellt, daß eine hämorrhagische Diathese besonders bei der akuten Leukämie bedingt sein kann durch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems. Wenig oder gar nicht wurde dabei der Vorgang der Aktivierung berücksichtigt. Erst v a n C r e v e l d und M o c h t a r (14) versuchten die Aktivierung durch einen Anstieg der Thrombocyten oder den schnellen Abfall der Leukocytenwerte während einer Remissionsphase zu erklären. In Bezug auf die Leukocyten kann aus der Sicht dieser Arbeit v a n C r e v e l d zugestimmt werden. Es sammelt nämlich eine Menge Aktivator während einer Remissionsphase an, wie der Fall des ersten Patienten

zeigt. Auch im Plasma ist durch den Zerfall vieler Leukocyten mit einem Anstieg des Plasminogenaktivators zu rechnen.

Aber nicht nur während einer Remissionsphase kommt es häufig zu Blutungen, sondern erst recht und viel häufiger tritt die hämorrhagische Diathese während eines Leukocytenanstiegs auf. Bei den Fällen 1 und 2 zeigt sich das besonders. Beachtet man dabei den Aktivatorgehalt im mm^3 , so wird man feststellen, daß dieser ebenfalls ansteigt. Der Aktivatorgehalt des Einzelleukocyten wird dagegen meistens abfallen, weil die Leukocyten wesentlich unreifer werden.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß es myeloische Leukosen geben kann, die mit einer Steigerung des Plasminogenaktivatorgehaltes einhergehen können. Dies konnte in zwei Fällen von chron. Myelose und in einem Fall von einer tödlichen Paramyeloblastenleukämie gezeigt werden. Es ist durchaus denkbar, daß die Aktivierung des fibrinolytischen Systems durch diesen Plasminogenaktivator verursacht wird. In einem weiteren Fall von Paramyeloblastenleukämie gab es keine eindeutigen Ergebnisse. Dasselbe trifft für zwei Fälle von lymphatischer Leukämie zu.

Hiermit darf die Fragestellung dieser Arbeit als beantwortet gelten.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Es wird ein kurzer Überblick über die historische Entwicklung der Fibrinolyseforschung gegeben.
2. Das fibrinolytische System wird skizziert und über die Beurteilung des Zusammenhangs von Leukämie und Fibrinolyse im Schrifttum berichtet.
3. Es wird die Technik zur Darstellung der Leucocyten suspension besprochen.
4. Es wird gezeigt, wie der Aktivator in den Leukocyten mittels der Mikromethode gemessen werden kann.
5. Mit Hilfe dieser Methode wird der Aktivatorgehalt in den Leukocyten aus normalem und leukämiekrankem Blut in je sechs Fällen bestimmt.
6. Es kann dabei festgestellt werden, daß der Aktivatorgehalt in den leukämischen Leukocyten geringer ist, und daß er während einer Remission des Krankheitsbildes wieder ansteigt.

Trotz des geringen Aktivatorgehaltes pro Leukocyt, ist aber bei der Leukämie aufgrund der hohen Zahl der Aktivatorgehalt sämtlicher Leukocyten im mm^3 erheblich größer als bei dem Normalblut. Dies zeigt, daß eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems bei der Leukämie sowohl während des Leukocytenanstiegs als auch während einer Remission stattfinden kann.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. A l b r e c h t s e n, O.K. : Fibrinolytic Activity in
T h a y s e n, J. H. Human Saliva.
Acta physiol. Scand.
35 (1955) 138
2. A s t r u p, T. : Fibrinolysis.
Acta haemat. 7 (1952) 271
3. A s t r u p, T. : Fibrinolysis and Thrombo-
Thromb. und Embolie lysis.
I. Kongr. Basel (1954) 92
4. A s t r u p, T. : Recent Developments in
Thromb. und Embolie Fibrinolysis.
I. Kongr. Basel (1954) 95
5. A s t r u p, T. : Fibrinolysis in the Or-
Blood 11 (1956) 781 ganism.
6. A s t r u p, T. : The Biological Signifi-
The Lancet 271 (1956) II. 565 cance of Fibrinolysis.
7. A s t r u p, T. : An activator of plas-
S t e r n d o r f f, I. minogen in normal urine.
Proc. Soc. Exp. Biol.
81 (1952) 675
8. A s t r u p, T. : A fibrinolytic system in
S t e r n d o r f f, I. human milk.
Proc. Soc. Exp. Biol.
84 (1953) 605
9. A s t r u p, T. : Fibrinolysis in Animal
P e r m i n, P. M. Organism.
Nature 681 (1947) 159

10. A s t r u p , T. : Fibrinokinase and Fibrino-
P e r m i n , P. M. lytic Enzymes.
Nature 689 (1948) 161
11. C h r i s t e n s e n , L. R. : Streptococcal Fibrinolysis:
J. Gen. Physiol. A proteolytic reaction due
28 (1945) 363 to a serum enzyme activa-
ted by streptococcal fibrin-
olysin.
12. C h r i s t e n s e n , L. R. : A proteolytic enzyme of
M c L e o d , C. M. serum: Characterisation,
J. Gen. Physiol. activation and reaction
28 (1945) 559 with inhibitors.
13. C l i f f t o n , E. E. : Fibrinolytic Activity of
G r o s s i , C. E. Human Tumors as Measured
Cancer 8 (1955) 1146 by the Fibrin-Plate Method.
14. v a n C r e v e l d , S. : Fibrinolysis in Acute
M o c h t a r , I. A. Leukaemia.
Ann. Paediat. 194 (1960) 65
15. C o o p e r b e r g , A. A. : Fibrinogenopenia and Fi-
N e i m a n , G. M. A. brinolysis in Acute Mye-
Ann Int. Med. logenous Leukaemia.
42 (1955) 706
16. D e u t s c h , E. : Medikamentös induzierte
E l s n e r , P. Fibrinolyse.
F i s c h e r , M.
Wien. Ztschr. inn. Med.
12 (1960) 457
17. E i c h e n b e r g e r , E. : Fibrinolyse nach intra-
Acta neuroveg. venöser Injektion bak-
11 (1955) 201 terieller Pyrogene.

18. Engel f r i e t, C. P. : Studies on Leukocyte
v a n L o g h e m, J. J. Iso- and Auto-Antibodies.
Brit. J. Haemat. 7 (1961) 223

19. G i r a u d, G. : Syndrome hémorragique
C a z a l, P. mortel par fibrinolyse
L a t o u r, H. aigue au cours d'une
I z a r i n, P. leucose myéloïde.
L e v y, A.
B a a r j o n, P.
e t R i b s t e i n, M.
Sang 25 (1954) 628

20. G o r m s e n, A.J. : Leukaemi, Splenectomie,
Ugeskr. for laeg. Fibrinolyse.
København. 117 (1955) 426

21. G r o s s, R. : Pathophysiologie und Klinik
Dtsch. Ges. inn. der Thrombocytopathien.
Med. 66. Kongr. (1960) 813

22. J ü r g e n s, J. : Die klinischen Methoden
B e l l e r, K. der Blutgerinnungsanalysen.
Thieme Verlag, Stuttgart
1959 S. 49

23. J ü r g e n s, J. : Die klinische Bedeutung
Dtsch. Med. fibrinol. Vorgänge
Wschr. 51 (1959) 2281

24. J ü r g e n s, J. : Das Verhalten des fibrinolyt. Systems bei der
Fol. haemat. Leukämie.
Neue Folge
8 (1963) 52

25. K a p l a n, M. H. : Nature and role of lytic
Proc. Soc. Exp. factor in haemolytic strep-
Biol. N.Y. tococcal fibrinolysis.
57 (1944) 40

26. K l i n e, D. L. : Plasmin: The humoral pro-
F i s h m a n, J. B. thease.
Ann. N. Y. Acad. Sci.
68 (1957) 25
27. K r a n z, P. P. : Klinische Zahnheilkunde und
Carl Hanser ihre Grenzgebiete.
Verlag/ München
3. Auflage 1946 S. 359
28. M a c f a r l a n e, R. G. : Fibrinolytic activity of
P i l l i n g, J. normal urine.
Nature 159 (1947) 779
29. M a u p i n, B. : Une nouvelle source de
D a u s s e t, J. Leucocytes et de Plaquettes.
Sang. 1 (1958) 74
30. M i l s t o n e, H. : A Factor in Normal Human
J. Immunol. Blood which Participates
42 (1941) 109 in Streptococcal Fibrino-
lysis.
31. M ü l l e r t z, S. : An Activator System in
L a s s e n, M. Blood Indispensable for
Proc. Soc. Exp. Formation of Plasmin by
Biol. 82 (1953) 264 Streptokinase.
32. M ü l l e r t z, S. : A Plasminogen Activator in
Proc. Soc. Exp. Spontaneously Active Human
Biol. 82 (1953) 291 Blood.
33. P i s c i o t t a, A. V. : Fibrinolytic Purpura in
S c h u l z, E. J. Acute Leukaemia.
Amer. J. Med.
19 (1955) 824

34. R e m m e r t, L. F. : Partial purification and
C o h e n, P. P. properties of a proteolytic
J. Biol. Chem. enzyme of human serum.
181 (1949) 431
35. R i s a k, E. : Die Fibrinopenie.
Zschr. klin. Med.
128 (1935) 605
36. R o e m e r, H. : Die Störung der Blutge-
B e l l e r, K. rinnung bei vorzeitiger
Geburtshilfe und Placentalösung.
Frauenheilk.
16 (1956) 8
37. S o u l i e r, J. P. : Syndromes hémorragiques
M a t h e y, J. mortels avec incoagulabi-
L e B o l l o c k, A. G. lite totale par defibri-
D a u m e t, P. nation et avec fibrino-
F a y e t, H. lyse.
Rev. hémat 7 (1952) 30
38. S g o u r i s, J. T. : The preparation of human
I m m a n, J. K. fibrinolysin. (plasmin)
M c C a l l, K. B.
H y n d m a n, L.A.
A n d e r s o n, H. D.
Vox Sanguinis 5 (1960) 357
39. S t e v e n s o n, C. S. : Hermorrhagic diathesis
B r a d e n, R. G. in abruptio placentae.
S c h n e i d e r, J. F.
S e e g e r s, W. H.
Am. J. Obst. and Gynec.
65 (1953) 88
40. S t o r m, O. : Fibrinolytic activity in
Scand. J. Clin. Lab. Invest. human tears.
7 (1955) 55

41. S t o r m o r k e n, H. : Fibrinolytisk Purpura.
Tidsskr. for Den Norske
Laegefor. 76 (1956) 754
42. T a g n o n, H. J. : The occurrence of Fibrino-
L e v e n s o n, S. M. lysis in shock, with ob-
D a v i d s o n, C. S. servations on the pro-
T a y l o r, F. H. L. thrombin time and the plas-
A m. J. M. Sc. ma fibrinogen during he-
211 (1946) 88 morrhagic shock.
43. T a g n o n, H. : Fibrinolysis in metastatic
W h i t m o r e, W. F. cancer of the prostate.
S h u l m a n, N. R.
Cancer 5 (1952) 9
44. T i l l e t, W. S. : The Fibrinolytic Activity
G a r n e r, R. L. of Hemolytic Streptococci.
J. Exper. Med.
58 (1933) 485
45. W i l l i a m s, J. R. B. : The fibrinolytic activity
Brit. J. Exper. Path. of urine.
32 (1951) 530
46. W o l f, H. J. : Einführung in die innere
Georg Thieme Verlag Medizin.
7. Aufl. 1960 S. 295

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Zahnarztes Dr. Fritz Schütz und seiner Ehefrau Margarete geb. Staubach, wurde ich, Walter Karl Schütz, am 19. September 1938 in Frankfurt (Main) geboren.

Zu Beginn des Krieges siedelten meine Mutter und ich nach Friedberg (Hessen) über, da mein Vater bereits in den ersten Kriegstagen zur deutschen Wehrmacht eingezogen wurde. Nach dem Besuch der Volksschule in Friedberg bestand ich die Aufnahmeprüfung in die Sexta der dortigen Augustinerschule. Nach Kriegsende konnte mein Vater seine zahnärztliche Praxis wiedereröffnen, und wir zogen im Herbst 1949 nach Frankfurt zurück. Ostern 1958 legte ich nach 8 1/2jährigem Besuch der Freiherr-vom-Stein-Schule in Frankfurt die Reifeprüfung ab.

Für das Sommersemester 1958 immatrikulierte ich an der Universität zu Frankfurt (Main) für Zahnmedizin. Im Juli 1963 habe ich die zahnärztliche Prüfung, ebenso wie die zahnärztliche Vorprüfung im Herbst 1960, mit dem Urteil "sehr gut" in Frankfurt bestanden.

Mit der Geltung vom 22. Juli 1963 bin ich approbierter Zahnarzt und arbeite als Assistent in einer zahnärztlichen Praxis.

Ffm, den 4.12.63

Walter Schütz

Meine akademischen Lehrer waren

Prof. Dr. Czerny
Prof. Dr. Müser
Prof. Dr. Dänzer
Prof. Dr. Royen
Prof. Dr. Wieland
Prof. Dr. Ried
Prof. Dr. Giersberg
Prof. Dr. Starck
Prof. Dr. Ortmann
Prof. Dr. Frick
Prof. Dr. Schneider
Prof. Dr. Kummer
Prof. Dr. Wezler
Prof. Dr. Greven
Prof. Dr. Felix
Prof. Dr. Heinz
Prof. Dr. Zahn
Prof. Dr. Róka
Priv.-Doz. Dr. Hübener
Priv.-Doz. Dr. Schmitt-Neuroth

Prof. Dr. Artelt
Prof. Dr. Graff
Prof. Dr. Herrmann
Prof. Dr. Steigleder
Prof. Dr. Thielemann
Prof. Dr. Landes
Prof. Dr. Westermann
Priv.-Doz. Dr. Weber
Priv.-Doz. Dr. Ristow
Priv.-Doz. Dr. Kreter
Lehrbeauftragter
Dr. Koller

Prof. Dr. v. Reckow
Prof. Dr. Hauser
Prof. Dr. Kuck
Prof. Dr. Rotter
Prof. Dr. Sandritter
Prof. Dr. Lapp
Prof. Dr. Frey
Prof. Dr. Jürgens
Prof. Dr. Martin
Prof. Dr. Kleinschmidt
Prof. Dr. Luff
Prof. Dr. Grüner

E h r e n w ö r t l i c h e E r k l ä r u n g

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

" Die Bestimmung des Plasminogen-
Aktivators in den Leukocyten bei
normalem und leukämiekrankem Blut."

in der II. Medizinischen Universitätsklinik, Frankfurt am Main unter Leitung von Prof. Dr. J. Jürgens ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 19.11.1963

W. O. Schütz

